

Д.Б. АУЖАНОВ¹, М.Ж. АЙМАГАМБЕТОВ¹,
Ж.А. ЖАГИПАРОВА¹, Y. NOSO²



ВЛИЯНИЕ АЗАТИОПРИНА НА ФОРМИРОВАНИЕ СПАЕЧНОГО ПРОЦЕССА БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Государственный медицинский университет г. Семей,
Республика Казахстан¹,
Медицинский факультет университета Шиманэ, г. Идзумо,
Япония²

Цель. Изучение влияния антиметаболита азатиоприна на формирование послеоперационных спаек в эксперименте на модели крыс.

Материал и методы. Основной эксперимент проводили на 30 (4-5-месячных) крысах самцах линии Вистар. Для инициации спаечного процесса была выполнена операция Блора. Крыс распределили на 2 группы (по 15 в каждой). Основная группа (ОГ) – животные получали азатиоприн в дозировке 1 мг/100 г веса перорально 1 раз в день в первые 3 суток (начиная со дня операции). Контрольная группа (КГ) – никаких препаратов не получали. На 7-е сутки все крысы были выведены из эксперимента. Оценка спаечного процесса проводилась по критериям: макроскопическая оценка (количественная оценка спаек – шкала Моргено, качественная оценка – шкала Бинда), гистологическое исследование. Также исследовалось влияние изучаемого метода на некоторые показатели иммунного статуса (лейкоциты, лимфоциты, CD, CD4, CD8, ФЧ, ФИ).

Результаты. В КГ спаечный процесс отмечался в 100% (15 крыс), в ОГ – в 80% (12 крыс) случаев. При оценке спаечного процесса по шкалам Моргено и Бинда в КГ количество спаек было больше – 38 против 13 ($p < 0,001$). Также в КГ превалировала толщина спаек и их прочность ($p < 0,001$). Объем соединительной ткани, удельный вес коллагеновых волокон, степень сосудистой пролиферации, фиброза в спайках ОГ менее выражены ($p = 0,029$). Показатели иммунного статуса в ОГ после проведенной терапии на 7-е сутки снижены незначительно.

Заключение. Иммуносупрессия препаратом азатиоприн достоверно снижает тяжесть спаечного процесса брюшной полости. Применение препарата в терапевтической дозе в течение 3 дней не приводит к существенному угнетению важных показателей иммунитета (незначительное снижение лейкоцитов и лимфоцитов на 0,3 и 0,9, умеренное уменьшение Т-лимфоцитов не более чем на 2,0, снижение фагоцитарной активности на 5,8).

Ключевые слова: послеоперационные спайки, профилактика, эксперимент на животных, иммуносупрессия, крыса, азатиоприн

Objective. Study of the azathioprine antimetabolite effect on the formation of postoperative adhesions in experiment on a rat model.

Methods. The main experiment was performed on 30 (4-5-month-old) male Wistar rats. The operation of Bloor was conducted in all animals for the initiation of the adhesive process. The rats were divided into 2 groups (15 in each): the main group (MG) – animals received azathioprine in a dosage of 1 mg/100 g of weight orally 1 time per day for the first 3 days (starting from the day of surgery). The control group (CG) did not receive any medications. On the 7th day, all rats were removed from the experiment. Adhesion assessment was performed by the criteria: macroscopic (quantitative assessment of adhesions – the Moreno scale, qualitative assessment – the Binda scale), histological examination. The effect of the studied method on some indicators of the immune status (leukocytes, lymphocytes, CD, CD4, CD8, PN, PI) was also studied.

Results. In CG adhesions were reported in 100% (15 rats), MG – 80% (12 rats). While evaluating adhesions on the Moreno and Binda scales in CG, the number of adhesions was greater – 38 versus 13 ($p < 0.001$). Also, in CG, the thickness of adhesions and their strength prevailed ($p < 0.001$). The volume of connective tissue, the proportion of collagen fibers, the degree of vascular proliferation, fibrosis in the adhesions in OG are less pronounced ($p = 0.029$). The immune status indicators in MG after the treatment on the 7th day were reduced slightly.

Conclusions. Immunosuppression with azathioprine significantly reduces the frequency and severity of the adhesive process in the abdominal cavity. The use of the drug in a therapeutic dose for 3 days does not lead to a significant inhibition of some of the immunity important indicators (a slight decrease in leukocytes and lymphocytes by 0.3 and 0.9, a moderate decrease in T-lymphocytes by no more than 2.0, a decrease in phagocytic activity by 5.8).

Keywords: postoperative adhesions, prevention, experiments on animals, immunosuppression, rat, azathioprine



Научная новизна статьи

Впервые изучено влияние азатиоприна на процессы спайкообразования брюшной полости в эксперименте на лабораторных крысах. Установлено, что использование азатиоприна снижает частоту и тяжесть спайкообразования. Применение препарата снижает степень фиброза в тканях, принимающих участие в спайкообразовании, при этом не оказывая значимой иммуносупрессии в рекомендуемой дозировке.

What this paper adds

For the first time, the effect of azathioprine on the processes of the abdominal cavity adhesions has been studied experimentally on laboratory rats. The use of azathioprine has been found out to reduce the frequency and severity of adhesions. The use of the drug reduces the degree of fibrosis in the tissues involved in adhesions, while not providing significant immunosuppression at the recommended dosage.

Введение

Спаечная болезнь с ее осложнениями является серьезной проблемой абдоминальной хирургии, не решенной до сих пор. В отличие от других послеоперационных осложнений, последствия образования спаек несут пожизненный риск с различными клиническими проявлениями. Спаечный процесс брюшной полости развивается в 90-100% случаев при верхней лапаротомии и в 67-93% при нижней лапаротомии [1], около 15-18% этих случаев требуют хирургического лечения. Перитонеальные спайки являются причиной общей острой кишечной непроходимости в 32% случаев, в 65-75% — причиной всех тонкокишечных непроходимостей [2]. Частота развития спаечной болезни брюшной полости может достигать 80% [3]. От 22,1 до 25,4% госпитализаций в первый год после оперативного вмешательства на брюшной полости или полости малого таза связаны со спаечным процессом [4].

Послеоперационные спайки с их осложнениями являются большой проблемой не только в абдоминальной хирургии, но и в гинекологии. Спайки идентифицированы как первичная причина у 25% пациентов, страдающих хронической тазовой болью, и были обнаружены у 20-30% женщин с нарушением фертильности [5].

Огромное количество веществ было проверено в клинических исследованиях и лабораторных экспериментах в качестве профилактических средств [6], но не было найдено никакого эффективного препарата.

Различные хирургические методы помогают снизить, но не полностью предотвратить возникновение спаек. Фармакологические средства, способные воздействовать на формирование спаечного процесса, находятся на стадии экспериментальных исследований и еще не доступны в хирургической практике. На данный момент определенную эффективность показало барьерное средство на основе гиалуроновой кислоты. Но еще не было доказано положительное воздействие данного средства на частоту спаечной кишечной непроходимости. Также отмечалось увеличение частоты несо-

стоятельности анастомозов при использовании гиалуроновой кислоты [7].

Такие группы препаратов, как глюкокортикостероиды и иммуносупрессоры, имеющие хороший положительный противоспаечный эффект в эксперименте и ряде клинических случаев, не достаточно изучены в клинических исследованиях в связи с их специфическим воздействием на организм [8, 9]. Их применение ограничено в связи с имеющимися побочными эффектами. В то же время перспективы их использования при взвешенном подходе к методике лечения выглядят довольно оптимистично, поэтому решено произвести экспериментальное исследование с изучением влияния иммуносупрессирующего препарата на процессы спайкообразования.

Цель. Изучение влияния антимагнетита азатиоприна на формирование послеоперационных спаек в эксперименте на модели крыс.

Материал и методы

Исследование проводилось на базе объединенной учебно-научной лаборатории Государственного медицинского университета г. Семей (Казахстан), в соответствии с Международными и национальными стандартами GLP (GLP — Quality Practices for Regulated Non-Clinical Research UNDP/WorldBank/WHO, 2006; СТ РК 1613-2006 «Надлежащая лабораторная практика. Основные положения» КТРМ МИТ РК, 2006). Крысы также были получены из этой лаборатории. После одобрения местного комитета по этике были использованы 36 взрослых (4-5 месяцев) самцов крыс Wistar весом 200 ± 20 г ($M \pm \sigma$). Животных содержали в стандартных условиях. До и после хирургических процедур животных снабжали стандартным кормом для крыс и водой.

Дизайн эксперимента. До начала основного эксперимента случайным образом было изъято 6 крыс для предварительной оценки состояния лабораторных показателей и анатомии внутренних органов. Полученные данные не отличались от нормальных физиологических показателей у представителей используемых

лабораторных животных. Данные этой группы животных приняты за норму. Всем животным была выполнена хирургическая процедура, направленная на индуцирование спаечного процесса. Анестезия была достигнута с использованием кетамина в дозе 80 мг/кг массы тела и 5 мг/кг ксилазина. Хирургические процедуры выполнялись в стерильных условиях. Все операции были выполнены одним и тем же автором. Продолжительность каждой операции составила около 10 минут, в послеоперационном периоде антибиотикопрофилактика не проводилась.

Выполнялась операция Блума после бритья и обработки живота раствором антисептика: срединная лапаротомия длиной 3 см, кишечник и париетальная брюшина припудривались стерильным тальком. Разрез ушивали в два слоя, используя узловые швы Викрил 4,0 для перитонеальной фасции и кожи. После операции животных контролировали до полного пробуждения и поддерживали теплом с помощью инфракрасной лампы. Ежедневно оценивалось общее состояние животных: состояние кожных покровов, активность, масса тела, сохранение инстинктов и т.д.

30 крыс были рандомизированы случайным образом в 2 группы по 15 животных: основную группу (ОГ) и контрольную (КГ). ОГ получала перорально иммунодепрессивный препарат азатиоприн в дозировке 1 мг/100 г веса перорально 1 раз в день в первые 3 суток (начиная со дня операции). КГ никаких препаратов не получала.

На седьмой день после операции все животные были выведены из эксперимента под наркозом углекислым газом с последующей

декапитацией. Кровь из сонных артерий была взята для лабораторного анализа. После этого брюшную полость вскрывали разрезом, удаленным от первоначальной лапаротомии, чтобы предотвратить нарушение любых потенциальных спаек. Далее проводилась визуальная, гистологическая и иммунохимическая оценка.

Макроскопическая оценка спаечного процесса. Визуальную оценку степени образования спаек проводили два обученных «ослепленных» независимых наблюдателя в соответствии с оценочными схемами. Количественная оценка спаек проводилась в соответствии со шкалой, описанной Moreno [10] (таблица 1). Плотность и качество спаек оценивали в соответствии со шкалой Binda [10] (таблица 2), которая была нами несколько модифицирована с заменой критерия «распространенность» для удобства подсчета. Были условно выделены 3 поперечные области, соответствующие этажам брюшной полости человека [11]. 0 баллов — нет спаек, 1 балл — спаечный процесс в пределах одной поперечной области, 2 балла — в пределах двух областей, 3 балла — более 2 областей или конгломерат органов.

Гистологическая оценка. Органы брюшной полости, вовлеченные в спаечный процесс, часть брюшины со спайками извлекались из трупа и фиксировались в 10% растворе формалина. Затем отправлялись в гистологическую лабораторию. Специалистом производилось их гистологическое исследование «вслепую» по общепринятой методике с заливкой препаратов в парафин, их окрашиванием гематоксилин-эозином и по Ван Гизону. Гистологические

Таблица 1

Оценочная шкала Moreno [10]

Критерии	Примечание
Число спаек	
Расположение спаек	
Таз — брюшная стенка	Париетальные
Сальник — брюшная стенка	Париетальные
Кишечник — брюшная стенка	Париетальные
Сальник — печень/желудок	
Кишечник — кишечник	Висцеральные
Печень — желудок	Висцеральные
Толщина спаек	Висцеральные
<3 mm	
>3 mm	
Прочность	
Тип 0	
Тип I	Нет спаек
Тип II	Просто, без рассечения
Тип III	Необходимо препарирование для отделения спаек
	Необходимо пересечение спаек
Васкуляризация спаек	
Да	Васкуляризированы
Нет	Не васкуляризованы

особенности формирования адгезии изучались путем подсчета 10 участков с помощью световой микроскопии. Оценивались: сосудистая пролиферация, воспаление, фиброз и образование коллагена. После получения всех результатов проводилось их разделение и интерпретация по исследуемым группам. Гистологическую оценку

проводили 2 «ослепленных» специалиста: первый специалист давал общее заключение после прямой микроскопии, второй специалист проводил оценку с помощью полуколичественной системы оценки, описанной G.D. Hooker et al. [12] (таблицы 3, 4).

Оценка некоторых показателей иммунитета.

Таблица 2

Оценочная шкала спаечного процесса Binda с модификацией [10]

Категория, описание	Баллы
Распространенность	
Нет спаек	0
Спаечный процесс в пределах одной поперечной области	1
В пределах двух областей	2
Более 2 областей или конгломерат органов	3
Тип	
Нет спаек	0
Пленчатый	1
Плотный	2
Васкуляризированный	3
Прочность	
Нет спаек	0
Легко разрываются	1
Требуют усилия	2
Требуют рассечения	3
Итог	0-10

Таблица 3

Оценочная шкала фиброза [12]

Описание	Баллы
Нет	0
Минимальный, неплотный	1
Средний	2
Выраженный, плотный	3

Таблица 4

Оценочная шкала воспаления [12]

Описание	Баллы
Нет	0
Гигантские клетки, случайные рассеянные лимфоциты и плазматические клетки	1
Гигантские клетки с увеличенным количеством смешанных лимфоцитов, плазматические клетки, эозинофилы, нейтрофилы	2
Много смешанных воспалительных клеток, микроабсцессы	3

Оценку иммунного статуса проводили с помощью методик по определению в крови общего количества лейкоцитов, лейкоцитарной формулы (по общепринятой методике) (1); фагоцитарного индекса и фагоцитарного числа (2); общего количества лимфоцитов и их субпопуляций (CD3+, CD4+, CD8+) (3) реакцией поверхностной иммунофлюоресценции с помощью набора неконъюгированных моноклональных антител фирмы CALTAG Laboratories.

Колмогорова-Смирнова: результат теста $p \leq 0,01$ указал на значимое отличие распределения переменных от нормального, данные представлены в виде абсолютных чисел и медианы с квартилями (Me (Q1, Q3)). Результаты и весовые данные сравнивали с использованием критерия Манна-Уитни, точного критерия Фишера, χ^2 -критерия Пирсона, χ^2 -критерия с поправкой Йейтса, разности медиан, значение $p < 0,05$ считали статистически значимым.

Статистика

Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета SPSS. Проведен анализ на нормальность распределения в группах с использованием критерия

Результаты

Спаечный процесс. Все 30 лабораторных животных жили в послеоперационном периоде до 7-х суток. Визуально не было отмечено никаких осложнений как со стороны жизнедеятель-

ности, так и со стороны послеоперационного рубца. В КГ спаечный процесс отмечался в 100% (15 крыс) случаев, ОГ – в 80% (12 крыс). В КГ количество спаек достоверно больше – 38 против 13, $U=3,5$, $Z=-4,732$, $p<0,001$. Также в КГ превалировала толщина спаек и их прочность, $p<0,05$ (таблица 5).

В КГ при оценке спаек по качественным параметрам по первому критерию (распространенность) у 2 животных спаечный процесс выявлен в пределах одной области, в 7 случаях в пределах двух областей, у 6 животных спаечный процесс являлся распространенным по всей брюшной полости (таблица 6).

По морфологическому виду образовавшихся спайки были плотные, васкуляризированные, редко – пленчатые. Для разъединения требовалось усилие или рассечение.

В основной группе распространенность спаечного процесса у 12 животных наблюдалась только в пределах одной области, в 3 случаях спайки полностью отсутствовали. Спайки представляли

собой тонкие пленчатые структуры, легко разъединяющиеся при незначительной тракции.

Нами была определена степень тяжести спаечного процесса по сумме баллов трех критериев, шкалы Binda: легкая (процесс в 1 этаже брюшной полости, 0 и 1 тип спаек – градация баллов 0-1) и выраженная (распространенность процесса на 2 и более этажей брюшной полости, 2 и 3 тип спаек – градация баллов 2-3), также учитывалась прочность спаек при разъединении. При сравнительной оценке трех критериев контрольной и основной групп по степени тяжести спаечного процесса различия были существенными $p<0,05$ и $p<0,001$ (таблица 6).

При подсчете общего количества баллов отмечалось значительное преобладание выраженной степени тяжести спаечного процесса у КГ 200 к 8 (таблица 7), что демонстрирует значимость легкой степени спаечного процесса в ОГ при использовании азатиоприна.

Гистологическая оценка. По заключению

Таблица 5

Шкала Моргено. Количественная оценка спайкообразования в группах крыс

Критерии	Контрольная группа (n=15)	Основная группа (n=15)	U	Z	p
Общее число	38	13	3,5	-4,732	<0,001
			2	df	P
Вид спаек					
- Parietalные	24	11	15,067	2	0,001
- Visceralные	14	2	13,583	2	0,001
Толщина					
- >3мм	24	2	20,952	2	<0,001
- <3мм	14	11	1,71	2	0,425
Прочность					
- Тип 0	-	-			
- Тип 1	8	11	3,804	2	0,149
- Тип 2	14	2	11,365	2	0,003
- Тип 3	16	-	22,941	2	<0,001

Примечание: U – критерий Манна-Уитни, χ^2 – критерий Пирсона.

Таблица 6

Шкала Binda. Балльная оценка тяжести спаечного процесса у крыс

Таблица 5. Анализ выраженности спаечного процесса у крыс							
Степень спаечного процесса		Распространенность (количество животных)		Тип спаек (количество спаек)		Прочность (количество спаек)	
	Баллы	КГ (n=15)	ОГ (n=15)	КГ (n=38)	ОГ (n=13)	КГ (n=38)	ОГ (n=13)
Легкая	0	0	3	—	3	—	3
	1	2	12	2	11	8	11
Выраженная	2	7	—	16	2	14	2
	3	6	—	20	—	16	—
		$\chi^2 - 19,548, df - 1, p<0,001$		$F - 0,00000, p<0,05$		$\chi^2 - 17,931, df - 1, p<0,001$	

Примечание: χ^2 – критерий с поправкой Йейтса, F – точный критерий Фишера.

Таблица 7

Степень тяжести спаечного процесса по сумме баллов

	Степень тяжести	КГ	ОГ
1	Легкая	12	22
2	Выраженная	200	8

1-го специалиста все изъятые ткани подтверждали спаечный процесс. Объем соединительной ткани и удельный вес коллагеновых волокон в спайках в ОГ был менее выражен, чем в КГ. Степень сосудистой пролиферации, воспаления и фиброза также были менее выражены в ОГ. В гистологических препаратах КГ имелась выраженная инфильтрация тканей лимфоцитами и макрофагами, в ОГ степень инфильтрации вышеуказанными клетками была менее выражена.

Для сравнительной оценки были выделены 2 степени фиброза и воспаления в соответствии с градацией баллов: легкая (0-1 балл) и выраженная (2-3 балла).

При балльной оценке степени фиброза в тканях и расчете χ^2 -критерия Пирсона с поправ-

кой Йейтса (таблица 8) выраженная степень фиброза в КГ достоверно превалирует по сравнению с ОГ $\chi^2=4,8$, $df=1$, $p=0,029$. При оценке воспаления — не было выявлено существенной разницы $\chi^2=1,35$, $df=1$, $p=0,246$.

Иммунологический анализ. Результаты лабораторных исследований, проведенных на 7-е сутки после операции, представлены в таблице 9.

Из таблицы видно, что имеются достоверные статистические различия большинства показателей между тремя группами. Также был произведен расчет разности медиан (таблица 10). При оценке результатов с клинической точки зрения были сделаны следующие выводы: в КГ некоторые показатели иммунной

Таблица 8

Степень фиброза и воспаления						
Баллы	Фиброз		2	df	P	
	КГ (n=15) (количество животных)	ОГ (n=15) (количество животных)				
0	0	3	4,8	1	0,029	
1	4	8				
Легкая степень	4	11				
2	7	4				
3	4	0				
Выраженная степень	11	4				
Баллы	Воспаление		2	df	P	
	КГ (n=15) (количество животных)	ОГ (n=15) (количество животных)				
0	0	3	1,35	1	0,246	
1	8	9				
Легкая степень	8	12				
2	6	3				
3	1	0				
Выраженная степень	7	3				

Примечание: χ^2 — критерий с поправкой Йейтса.

Таблица 9

Показатели иммунного статуса крыс						
Показатели	Норма (Ме)	КГ (Ме)	ОГ (Ме)	U КГ*ОГ	U КГ*Норма	U ОГ*Норма
Лейкоциты ($\times 10^9$ /л)	9,05	11,2 (10,8, 12,1)	8,7 (8,6, 9,0)	0, Z=-4,674 $p<0,001$	0, Z=-3,507 $p<0,001$	15,5, Z=-2,315 $p=0,021$
Лимфоциты (%)	78,3	81,5 (80,6, 82,1)	77,4 (76,8, 77,8)	0, Z=-4,671 $p<0,001$	0, Z=-3,510 $p<0,001$	1,0, Z=-3,442 $p=0,01$
CD3 (%)	72,35	78,1 (77,4, 78,4)	70,2 (70,0, 71,3)	0, Z=-4,671 $p<0,001$	0, Z=-3,512 $p<0,001$	8,0, Z=-2,891 $p=0,04$
CD4 (%)	43,2	48,1 (47,8, 48,7)	43,2 (42,8, 44,0)	0, Z=-4,673 $p<0,001$	0, Z=-3,516 $p<0,001$	31, Z=-1,093 $p=0,274$
CD8 (%)	28,7	26,5 (25,9, 27,1)	26,7 (25,6, 27,1)	104, Z=-0,353 $p=0,724$	3,5, Z=-3,243 $p=0,001$	3,5, Z=-3,248 $p=0,01$
ФИ	91,5	87,0 (86,0, 88,0)	86,0 (84,0, 87,0)	62,5, Z=-2,111 $p=0,035$	0, Z=-3,539 $p<0,001$	0, Z=-3,531 $p<0,001$
ФЧ	4,15	4,2 (4,0, 4,2)	4,1 (4,0, 4,1)	78, Z=-1,473 $p=0,141$	43,5, Z=-0,121 $p=0,903$	27,5, Z=-1,428 $p=0,153$

Примечание: p — оценка с использованием критерия Манна-Уитни, ФИ — фагоцитарный индекс, ФЧ — фагоцитарное число.

Таблица 10

Показатели	Me1-Me2 (КГ*ОГ)	Me1-Me2 (КГ*Норма)	Me1-Me2 (ОГ*Норма)
Лейкоциты	2,5 ДИ 95% [2,2; 3,2]	2,3 ДИ 95% [1,8; 3,1]	0,3 ДИ 95% [0,1; 0,5]
Лимфоциты	4,3 ДИ 95% [3,5; 5,0]	3,2 ДИ 95% [2,3; 3,9]	0,9 ДИ 95% [0,4; 1,7]
CD3	7,7 ДИ 95% [6,8; 8,2]	5,7 ДИ 95% [5,1; 6,2]	2,0 ДИ 95% [1,0; 2,4]
CD4	4,8 ДИ 95% [4,2; 5,4]	5,1 ДИ 95% [4,7; 6,0]	0,4 ДИ 95% [-0,2; 1,2]
CD8	0,1 ДИ 95% [-0,6; 1,2]	2,05 ДИ 95% [1,5; 2,8]	2,0 ДИ 95% [1,6; 3,1]
ФИ	1,0 ДИ 95% [0; 2]	4,55 ДИ 95% [3,5; 5,8]	5,8 ДИ 95% [4,6; 7,3]
ФЧ	0,1 ДИ 95% [0; 0,2]	0 ДИ 95% [-0,1; 0,1]	0,1 ДИ 95% [0; 0,2]

реакции выше нормы на 2,3-5,7, ФИ снижен на 4,55, что обусловлено естественной реакцией организма крыс на проведенное оперативное вмешательство. Показатели ОГ: незначительное снижение лейкоцитов и лимфоцитов на 0,3 и 0,9 соответственно, умеренное уменьшение Т-лимфоцитов не более чем на 2,0, снижение фагоцитарной активности на 5,8.

Обсуждение

В настоящее время подробно изучен патогенез спайкообразования, что позволяет разрабатывать и использовать патогенетическую терапию начиная с фазы закладки фибринозного матрикса. В ответ на травму брюшины запускается каскад иммунных реакций в организме, играющих основную роль в формировании спаек. Основная роль принадлежит клеточному иммунитету (Т-лимфоциты, макрофаги). Основной период формирования спаек — первые 3-е суток после оперативного вмешательства [3]. Воздействие в этот период на основные патогенетические звенья процесса может привести к нарушению механизма адгезиогенеза.

На данный момент преимущество в профилактике послеоперационного спайкообразования отдано барьерной методике, т.е. механическому разделению перитонеальных поверхностей. С этой целью используются жидкие и твердые средства. Наиболее изучены и доказаны противовоспалительные эффекты гиалуроновой кислоты в различных соединениях, а также 4% икодекстрина [13, 14]. Но применение барьерной методики имеет ряд недостатков: твердые барьеры обладают сайт-специфичностью, могут индуцировать реакцию чужеродного тела (более высокая частота образования внутрибрюшинного абсцесса), затруднение их использования в лапароскопической хирургии, а также высокая стоимость являются дополнительными ограничениями [15]; при использовании жидких барьеров необходима инсталляция больших объемов жидкости в брюшную полость, что приводит к таким нежелательным побочным эффектам, как просачивание через разрез,

ощущение движения жидкости, дискомфорт в животе, вздутие живота и осложнения, такие как легочный и периферический отек; большие объемы внутрибрюшинной жидкости могут снизить способность брюшины противостоять бактериальным инфекциям [15].

Применение иммуносупрессии с целью профилактики спайкообразования является наиболее патогенетическим методом, но изучение и применение его несколько ограничено вследствие специфичного воздействия на иммунную систему и возможного возникновения побочных эффектов. Многие исследователи и специалисты опасаются выраженной иммунодепрессии, диссеминации инфекций, замедления процессов регенерации и т.п. По нашему мнению, подбор оптимальной дозы препарата и длительности применения, комплексность терапии и правильная хирургическая тактика (соблюдение атравматичности и тщательная санация брюшной полости) могут значительно снизить все негативные воздействия.

Хороший противовоспалительный эффект иммуносупрессоров был продемонстрирован в ряде исследований [16, 17]. Использовались препараты 5-фторурацил и циклофосфамид, являющиеся цитостатическими средствами с выраженным противоопухолевым действием. Патогенетический эффект на спайкообразование был обусловлен подавлением функции лейкоцитов и тканевых макрофагов, циркулирующих лимфоцитов (Т- и В-клеток), моноцитов, эозинофилов, подавлением синтеза простагландинов и лейкотриенов. Использование данных методов несколько ограничено в первую очередь в связи с областью применения перечисленных препаратов — онкологические пациенты. Также оба лекарственных средства обладают выраженным цитотоксическим действием на иммунологические и другие клетки организма, что требует коррекции иммуномодулирующими препаратами. В частности, побочные действия 5-фторурацила впоследствии корректировались иммуностимулятором [16]. Еще одним недостатком является путь введения препаратов — интраперитонеальный, а в случае 5-фторурацила — дополняемый эндолимфатическим введением.

Применение иммуносупрессора азатиоприна временно нарушает функцию Т-клеток, оказывает статическое действие на провоспалительные цитокины, тем самым нарушая клеточное звено спайкообразования. Мы предположили, что противовоспалительное и иммуносупрессивное действие, схожее с вышеперечисленными у иммуносупрессоров, может быть эффективным для профилактики спаек. Никогда ранее азатиоприн не применялся для лечения и профилактики спаечной болезни. Выбор препарата был обусловлен его воздействием в большей степени на клеточный иммунитет, чем гуморальный. По сравнению с другими иммунодепрессантами он менее цитотоксичен, более выражен цитостатический эффект. Препарат больше угнетает лимфоидное кроветворение и меньше миелоидное. Пероральный метод введения препарата обуславливает значительную простоту приема и исключает отрицательные моменты интраперитонеального способа введения. Благодаря короткому периоду применения препарата и использованию стандартной терапевтической дозы, максимально снижалось его миелодепрессивное действие.

Проведенное нами исследование подтверждает противоспаечное действие иммуносупрессоров, как и в исследованиях с 5-фторурацилом и циклофосфамидом.

По данным исследования иммунного статуса следует отметить, что при применении азатиоприна в рекомендуемой нами дозе (3-дневная терапия) на 7-е сутки не происходит угнетения иммунитета крыс. Учитывая это, можно прийти к выводу, что необходимая клеточная иммуносупрессия происходит в первые трое суток, на стадии «закладки» спаечного процесса, с последующей нормализацией иммунограммы.

Данное исследование является начальным этапом проводимой работы по исследованию иммуносупрессии азатиоприном в профилактике спайкообразования.

Выводы

1. Иммуносупрессия препаратом азатиоприн достоверно снижает тяжесть спаечного процесса в брюшной полости.

2. Применение азатиоприна в терапевтической дозе в течение 3 дней не приводит к существенному угнетению важных показателей иммунитета (незначительное снижение лейкоцитов и лимфоцитов на 0,3 и 0,9, умеренное уменьшение Т-лимфоцитов не более чем на 2,0, снижение фагоцитарной активности на 5,8).

Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом диссертационного исследования PhD докторанта Д.Б. Аужанова.

Финансовой поддержки со стороны компаний-производителей лекарственных препаратов авторы не получали.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

Одобрение комитета по этике

Исследование одобрено этическим комитетом Государственного медицинского университета г. Семей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Назаренко АА, Акимов ВП, Малышкин ПО. Эпидемиология, патогенез и профилактика послеоперационного спаечного процесса в брюшной полости. *Вестн Хирургии им ИИ Грекова*. 2016;175(5):114-18.
2. Ouaiissi M, Gaujoux S, Veyrie N, Denève E, Brigan C, Castel B, Duron JJ, Rault A, Slim K, Nocca D. Post-operative adhesions after digestive surgery: their incidence and prevention: review of the literature. *J Visc Surg*. 2012 Apr;149(2):e104-14. doi: 10.1016/j.jvisc Surg.2011.11.006
3. Филенко БП, Земляной ВП, Борсак ИИ, Иванова АС. Спаечная болезнь: Профилактика и лечение: моногр. С-Петербург, РФ; 2013. 164 с. http://baltzdrav.ru/images/files/borsak_monography.pdf
4. Stanciu D, Menzies D. The magnitude of adhesion-related problems. *Colorectal Dis*. 2007 Oct;9(Suppl 2):35-38. doi: 10.1111/j.1463-1318.2007.01346.x
5. Rizzo A, Spedicato M, Mutinati M, Minoia G, Angioni S, Jirillo F, Pantaleo M, Sciorsci RL. Peritoneal adhesions in human and veterinary medicine: from pathogenesis to therapy. A review. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2010 Sep;32(3):481-94. doi: 10.3109/08923970903524367
6. Mais V, Cirronis MG, Peiretti M, Ferrucci G, Cossu E, Melis GB. Efficacy of auto-crosslinked hyaluronan gel for adhesion prevention in laparoscopy and hysteroscopy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012 Jan;160(1):1-5. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.08.002
7. Kumar S, Wong PF, Leaper DJ. Intra-peritoneal prophylactic agents for preventing adhesions and adhesive intestinal obstruction after non-gynaecological abdominal surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Jan 21;(1):CD005080. doi: 10.1002/14651858.CD005080.pub2
8. Binda MM, Molinas CR, Bastidas A, Koninckx PR. Effect of reactive oxygen species scavengers, anti-inflammatory drugs, and calcium-channel blockers on carbon dioxide pneumoperitoneum-enhanced adhesions in a laparoscopic mouse model. *Surg Endosc*. 2007 Oct;21(10):1826-34. <https://www.springermedizin.de/>

effect-of-reactive-oxygen-species-scavengers-antiinflammatory-dr/8531612

9. diZerega GS, Tulandi T. Prevention of intra-abdominal adhesions in gynaecological surgery. *Reprod Biomed Online*. 2008 Sep;17(3):303-306. doi: 10.1016/S1472-6483(10)60211-8

10. Arung W, Drion P, Cheramy JP, Honoré P, Meurisse M, Defraigne JO, Detry O. Intraperitoneal adhesions after open or laparoscopic abdominal procedure: an experimental study in the rat. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2012 Sep;22(7):651-57. doi: 10.1089/lap.2012.0102

11. Андреева ИВ, Виноградов АА. Атлас нормальной и ультразвуковой анатомии живота крысы [Электронный ресурс]. Москва, РФ: ГЭОТАР-Медиа; 2015. <http://www.studentlibrary.ru/book/06-COS-2400.html>

12. Hooker GD, Taylor BM, Driman DK. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh—a randomized, controlled study. *Surgery*. 1999 Feb;125(2):211-16. doi:10.1016/S0039-6060(99)70267-9

13. Hindocha A, Beere L, Dias S, Watson A, Ahmad G. Adhesion prevention agents for gynaecological surgery: an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jan 6;1:CD011254. doi: 10.1002/14651858.CD011254.pub2

14. Ahmad G, O'Flynn H, Hindocha A, Watson A. Barrier agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Apr 30;(4):CD000475. doi: 10.1002/14651858.CD000475.pub3

15. Pados G, Venetis CA, Almaloglou K, Tarlatzis BC. Prevention of intra-peritoneal adhesions in gynaecological surgery: theory and evidence. *Reprod Biomed Online*. 2010 Sep;21(3):290-303. doi: 10.1016/j.rbmo.2010.04.021

16. Гасанов НГ, Брежнев ВФ, Новикова ОИ, Гришина ОВ, Вацик МВ. Профилактика спаечной болезни при хирургическом лечении злокачественных опухолей органов живота. *Хирург*. 2013;(2):46-50.

17. Суфияров ИФ, Латыпов РЗ, Сибиряк СВ, Шафиков РМ. Влияние иммуносупрессии, индуцированной циклофосфамидом, на развитие послеоперационных брюшинных спаек. *Мед Вестн Башкортостана*. 2009;4(4):64-67. <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-immunosupressii-indutsirovannoy-tsiklofosfamidom-na-razvitie-posleoperatsionnyh-bryushinnyh-spaek>

REFERENCES

1. Nazarenko AA, Akimov VP, Malyshev PO. Epidemiologia, patogenez i profilaktika posleoperatsionnogo spaechnogo protsessa v briushnoi polosti. *Vestn Khirurgii im II Grekova*. 2016;175(5):114-18. (In Russ.)

2. Ouasssi M, Gaujoux S, Veyrie N, Denève E, Brigand C, Castel B, Duron JJ, Rault A, Slim K, Nocca D. Post-operative adhesions after digestive surgery: their incidence and prevention: review of the literature. *J Visc Surg*. 2012 Apr;149(2):e104-14. doi: 10.1016/j.jvisurg.2011.11.006

3. Filenko BP, Zemlianoi VP, Borsak II, Ivanova AS. Spaechnaia bolezni: Profilaktika i lechenie: monogr. S-Petersburg, RF; 2013. 164 p. http://baltzdrav.ru/images/files/borsak_monography.pdf (In Russ.)

4. Stanciu D, Menzies D. The magnitude of adhesion-

related problems. *Colorectal Dis*. 2007 Oct;9(Suppl 2):35-38. doi: 10.1111/j.1463-1318.2007.01346.x

5. Rizzo A, Spedicato M, Mutinati M, Minoia G, Angioni S, Jirillo F, Pantaleo M, Sciorsci RL. Peritoneal adhesions in human and veterinary medicine: from pathogenesis to therapy. A review. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2010 Sep;32(3):481-94. doi: 10.3109/08923970903524367

6. Mais V, Cirronis MG, Peiretti M, Ferrucci G, Cossu E, Melis GB. Efficacy of auto-crosslinked hyaluronan gel for adhesion prevention in laparoscopy and hysteroscopy: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2012 Jan;160(1):1-5. doi: 10.1016/j.ejogrb.2011.08.002

7. Kumar S, Wong PF, Leaper DJ. Intra-peritoneal prophylactic agents for preventing adhesions and adhesive intestinal obstruction after non-gynaecological abdominal surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Jan 21;(1):CD005080. doi: 10.1002/14651858.CD005080.pub2

8. Binda MM, Molinas CR, Bastidas A, Koninckx PR. Effect of reactive oxygen species scavengers, anti-inflammatory drugs, and calcium-channel blockers on carbon dioxide pneumoperitoneum-enhanced adhesions in a laparoscopic mouse model. *Surg Endosc*. 2007 Oct;21(10):1826-34. <https://www.springermedizin.de/effect-of-reactive-oxygen-species-scavengers-antiinflammatory-dr/8531612>

9. diZerega GS, Tulandi T. Prevention of intra-abdominal adhesions in gynaecological surgery. *Reprod Biomed Online*. 2008 Sep;17(3):303-306. doi: 10.1016/S1472-6483(10)60211-8

10. Arung W, Drion P, Cheramy JP, Honoré P, Meurisse M, Defraigne JO, Detry O. Intraperitoneal adhesions after open or laparoscopic abdominal procedure: an experimental study in the rat. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*. 2012 Sep;22(7):651-57. doi: 10.1089/lap.2012.0102

11. Andreeva IV, Vinogradov AA. Atlas normal'noi i ul'trazvukovoi anatomii zhivota krysy [Elektronnyi resurs]. Moscow, RF: GEOTAR-Media; 2015. <http://www.studentlibrary.ru/book/06-COS-2400.html> (In Russ.)

12. Hooker GD, Taylor BM, Driman DK. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh—a randomized, controlled study. *Surgery*. 1999 Feb;125(2):211-16. doi:10.1016/S0039-6060(99)70267-9

13. Hindocha A, Beere L, Dias S, Watson A, Ahmad G. Adhesion prevention agents for gynaecological surgery: an overview of Cochrane reviews. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Jan 6;1:CD011254. doi: 10.1002/14651858.CD011254.pub2

14. Ahmad G, O'Flynn H, Hindocha A, Watson A. Barrier agents for adhesion prevention after gynaecological surgery. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015 Apr 30;(4):CD000475. doi: 10.1002/14651858.CD000475.pub3

15. Pados G, Venetis CA, Almaloglou K, Tarlatzis BC. Prevention of intra-peritoneal adhesions in gynaecological surgery: theory and evidence. *Reprod Biomed Online*. 2010 Sep;21(3):290-303. doi: 10.1016/j.rbmo.2010.04.021

16. Gasanov N, Brezhnev V, Novikova O, Grishina O, Vatsik M. Prevention of peritoneal commissures at surgical treatment of malignant swellings of abdominal organs. *Khirurg*. 2013;(2):46-50. (In Russ.)

17. Sufiyarov IF, Lalipov RZ, Sibiryak SV, Shafikov RM. Influence of immunosuppression induced by cyclophosphamide on development postoperative adhesion diseases. *Med Vestn Bashkortostana*.

2009;4(4):64-67. <https://cyberleninka.ru/article/n/vliyanie-immunosupressii-indutsirovannoy-tsiklofosfamidom-na-razvitie-posleoperatsionnyh-bryushinnyh-spaek> (In Russ.)

Адрес для корреспонденции

071400, Республика Казахстан,
г. Семей, ул. Абая Кунанбаева, д. 103,
Государственный медицинский
университет г. Семей,
кафедра госпитальной хирургии,
тел.: +7 777 264-89-42,
e-mail: daurechik@mail.ru,
Аужанов Даурен Берикжанович

Address for correspondence

071400, The Republic of Kazakhstan,
Semey, Abay Kunanbayev Str., 103,
Semey State Medical University,
Hospital Surgery Department.
Tel.: +7 777 264-89-42,
e-mail: daurechik@mail.ru,
Dauren B. Auzhanov

Сведения об авторах

Аужанов Даурен Берикжанович, PhD, докторант
Государственного медицинского университета
г. Семей, Республика Казахстан.
<https://orcid.org/0000-0001-8378-0054>
Аймагамбетов Мейрбек Жаксыбекович, д.м.н, до-
цент, заведующий кафедрой интернатуры по хирур-
гии Государственного медицинского университета
г. Семей, Республика Казахстан.
<https://orcid.org/0000-0002-8344-4445>
Жагипарова Жанар Амангельдиновна, к.м.н., заве-
дующая кафедрой специальных дисциплин Павло-
дарского филиала Государственного медицинского
университета г. Семей, Республика Казахстан.
<https://orcid.org/0000-0002-5619-3505>
Noso Yoshihiro, MD, PhD, профессор кафедры об-
щей медицины факультета медицины университета
Шиманэ, г. Идзумо, Япония.
<https://orcid.org/0000-0003-3477-1260>

Information about the authors

Auzhanov Dauren B., Applicant for Doctor's Degree
of Semey State Medical University, Semey, Republic
of Kazakhstan.
<https://orcid.org/0000-0001-8378-0054>
Aymagambetov Meyrbek Zh., MD, Associate Professor,
Head of the Surgery Internship Department of
Semey State Medical University, Semey, Republic of
Kazakhstan.
<https://orcid.org/0000-0002-8344-4445>
Zhagiparova Zhanar A., PhD, Head of the Department
of Special Disciplines of Pavlodar Branch of Semey State
Medical University, Semey, Republic of Kazakhstan.
<https://orcid.org/0000-0002-5619-3505>
Noso Yoshihiro, MD, PhD, Professor of the General
Medicine Department of the Faculty of Medicine,
Shimane University, Izumi, Japan.
<https://orcid.org/0000-0003-3477-1260>

Информация о статье

*Получена 12 ноября 2018 г.
Принята в печать 10 июня 2019 г.
Доступна на сайте 1 сентября 2019 г.*

Article history

*Arrived: 12 November 2018
Accepted for publication: 10 June 2019
Available online: 1 September 2019*